Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. K. Kochsiek

DIE KLINISCHE WERTIGKEIT DER BESTIMMUNG DER BETA-2-MIKROGLOBULIN (β_2m)-PLASMAKONZENTRATION IM VERGLEICH MIT DER PLASMAKONZENTRATION DES CARCINO-EMBRYONALEN ANTIGENS (CEA) BEI DER ERSTDIAGNOSTIK SOWIE BEI DER BEURTEILUNG DER OPERATIONSRADIKALITÄT VON ADENOCARCINOMEN DES VERDAUUNGSTRAKTES

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Christa Wätzel
aus
Unterbrüden

Würzburg, den 27. April 1981

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. K. Kochsiek

Die klinische Wertigkeit der Bestimmung der Beta-2-Mikroglobulin (β_2m) - Plasmakonzentration im Vergleich mit der Plasmakonzentration des carcino - embryonalen Antigens (CEA) bei der Erstdiagnostik sowie bei der Beurteilung der Operationsradikalität von Adenocarcinomen des Verdauungstraktes.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Christa Wätzel
aus
Unterbrüden

Würzburg, den 27. April 1981

Referent:	Privatdozent Dr. med. I.O. Auer
Korreferent:	Professor Dr. med. K. Kochsiek
Dekan:	Professor Dr. med. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Juli 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

G L I E D E R U N G

A) THEMATISCHER RAHMEN - PROBLEMSTELLUNG

1. Einleitung
1.1 ß-2-Mikroglobulin
1.2 Allgemeine Problemstellung

2. Spezielle Problemstellung

B) EXPERIMENTELLER TEIL

1. Krankengut

2. Methodik
2.1 Bestimmung des $ß_2m$ - Plasmaspiegels
2.2 Bestimmung des CEA - Plasmaspiegels

3. Statistik

C) ERGEBNISSE

1. Retrospektive Studie zur Wertigkeit beider Antigene bei der Primärdiagnostik
1.1 $ß_2m$ und CEA bei Tumoren des Gastrointestinaltrakts
1.2 $ß_2m$ und CEA bei entzündlichen Darmerkrankungen
1.3 Abhängigkeit von der Tumorausdehnung
1.4 Aussagekraft der Parallelbestimmung von $ß_2m$ und CEA

2. Postoperative Verlaufskontrolle
2.1 unmittelbar postoperativer Verlauf
2.2 postoperative Langzeitverlaufskontrolle

D) DISKUSSION

1. Klinische Wertigkeit des β_2m im Vergleich zum CEA bei der Primärdiagnostik gastrointestinaler Malignome
1.1 Einfluß der Entzündung am Verdauungstrakt auf β_2m
1.2 β_2m bei gastrointestinalen Tumoren

2. Klinische Wertigkeit des β_2m und CEA bei der postoperativen Verlaufskontrolle

MEINEN LIEBEN ELTERN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543519_0094

A) THEMATISCHER RAHMEN - PROBLEMSTELLUNG

1. EINLEITUNG

Nach dem "Cancer patient survival report Nr. 5" (6) betrug in den USA die relative Überlebensrate für Krebspatienten unter Weißen bei Diagnosestellung in den Jahren 1950 - 1959 39%, bei Diagnosestellung in den Jahren von 1967 - 1973 41%, das heißt ganze 2% mehr.

Dieser Tatbestand ist, auch bei Berücksichtigung der Heterogenität der in diesen Kollektiven zusammengefaßten Malignome, in Anbetracht des Milliardenaufwands für Diagnose, Therapie und Erforschung des Krebses ernüchternd.

Früherkennung und frühzeitige Therapie des Primärtumors bzw. des Rezidivs sind für die Prognose dieser Patienten nach wie vor von erstrangiger Bedeutung. So waren in der Studie von AXTELL et al. (6) die 5 - Jahres - Überlebensraten bei lokalisierten Carcinomen des Magens mit 57% bzw. des Colons und Rectums mit 69% noch relativ hoch, während nach Auftreten regionaler Lymphknotenmetastasen die 5 -Jahres - Überlebensraten mit ca. 35% schon wesentlich ungünstiger lagen.

Auf dieses Ziel der Früherkennung und frühzeitigen Therapie von malignen Tumoren ist die intensive

Suche nach tumorassoziierten Antigenen und deren Nachweis im peripheren Blut von Tumorpatienten gerichtet.

In jüngster Zeit berichteten nun verschiedene Untersucher von erhöhten Serum - bzw. Plasmakonzentrationen des ß-2-Mikroglobulins ($ß_2m$) bei Patienten mit Malignom (5,7,8,12,13,16,18,19,22), so auch bei Adenocarcinomen des Verdauungstraktes (5,7,8, 13,16,22).

1.1 ß-2-Mikroglobulin

Das ß-2-Mikroglobulin ($ß_2m$) ist ein monomeres, mit der konstanten Domain der leichten und schweren Ketten des Immunglobulin G identisches Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 11 800 Dalton (17) mit etwa 100 Aminosäuren. Bisher konnte es in Serum, Liquor, Speichel, Kolostralmilch und Fruchtwasser nachgewiesen werden (11,17).

Da das ß-2-Mikroglubulin im Serum und Urin als freies Monomer vorliegt und somit die glomeruläre Membran relativ leicht passieren kann, andererseits im normalen Urin nur geringe Mengen davon vorliegen, kann geschlossen werden, daß es zu einem hohen Grad in den proximalen Nierentubuli rückresorbiert wird.

Deshalb kann das Verhältnis der Konzentrationen von ß-2-Mikroglobulin und Albumin im Urin zur Unterscheidung von glomerulärer und tubulärer Proteinurie herangezogen werden (11,17,19).

Der Normalwert der Konzentration von ß-2-Mikroglo-

bulin (β_2m) beträgt im Serum 0,18 mg%, das entspricht 2 µg/ml Serum. Im 24 - Stunden - Urinvolumen finden sich normalerweise 0,11 mg ß-2-Mikroglobulin.

Erhöhungen des Serumspiegels treten zum einen bei Einschränkungen des glomerulären Filtrates auf - wobei sich die Erhöhung parallel zur Kreatininkonzentration und umgekehrt proportional zur glomerulären Filtrationsrate bewegt - zum anderen wurden sie bei verschiedenen Tumoren (5,7,8,12,13,16,18, 19,22) beobachtet.

Eine erhöhte Ausscheidung von ß-2-Mikroglobulin im Urin ist charakteristisch für eine Reihe von Nierenerkrankungen mit tubulärer Schädigung wie z. B. Balkannephropathie, Fanconi - Syndrom, okulozerebrorenales Syndrom und renale tubuläre Acidose, außerdem für chronische Hypokaliämie, akutes Nierenversagen und Abstoßungskrisen bei Nierentransplantaten (11,12).

Da in jüngster Zeit verschiedene Untersucher von erhöhten Serum - bzw. Plasmakonzentrationen des ß-2-Mikroglobulins bei Patienten mit Malignom (5,7,8,12, 16,18,19,22), so auch bei Adenocarcinomen des Verdauungstraktes (5,7,8,13,16,22) berichtet hatten, war nun die Frage von Interesse, ob die Bestimmung des ß-2-Mikroglobulins (β_2m; 5,13) in der Tat neue Information zur Frühdiagnostik von Malignomen des Verdauungstraktes liefert.

1.2 Allgemeine Problemstellung

Die Bestimmung der Plasma - bzw. Serumkonzentration

des carcino - embryonalen Antigens (CEA), eines onkofoetalen Antigens, hat heute breiten Eingang in die Klinik gefunden zur posttherapeutischen Verlaufskontrolle bestimmter Tumoren, so vor allem von Adenocarcinomen des Verdauungstraktes (4,15, 16).

Das carcino - embryonale Antigen (CEA), von GOLD und FREEDMAN ursprünglich als coloncarcinomspezifisches Tumorantigen beschrieben, tritt in embryonalen entodermalen Organen sowie in malignen Tumoren des Verdauungstraktes und Tumoren anderer entodermaler Gewebe in besonders hohen Konzentrationen auf.

Stark erhöhte CEA - Spiegel im Serum bzw. Plasma wurden in einem hohen Prozentsatz bei Dickdarmcarcinompatienten angetroffen (7,21,28), geringere Erhöhungen der CEA - Konzentration wurden bei Patienten mit Pankreas- , Lungen- , Magen- , Mamma- , Prostata- und Urogenitalcarcinomen (28) nachgewiesen.

Die klinische Bedeutung der Plasma - CEA - Konzentration bei der Primärdiagnose von Malignomen des Verdauungstrakts erwies sich jedoch als enttäuschend gering (1,3).

Grund dafür war zum einen das Auftreten erhöhter Plasma - CEA - Werte bei verschiedenen benignen Erkrankungen, vor allem bei einem Großteil der bei Tumorverdacht des Verdauungstraktes differentialdiagnostisch relevanten Erkrankungen des Magen - Darm - Traktes wie z. B. alkoholische Hepatopathie, chronisch - aggressive Hepatitis, Leberzirrhose, Cholezystitis, Proctitis, Colitis ulcerosa, Morbus Crohn, Diverticulitis und chronischen Pankreaserkrankungen (1,3,28).

Zum anderen wurde die Bedeutung der CEA - Plasmakonzentration bei der Primärdiagnose gastrointestinaler Malignome auch dadurch gemindert, daß signifikant erhöhte Plasma - CEA - Werte bei malignen Tumoren, so auch beim Colon - Rectum - Carcinom, bevorzugt erst bei fortgeschrittenen Stadien eintreten (1,3,14).

Dagegen erwies sich bei der Primärdiagnostik von Tumoren des Verdauungstraktes das Plasma - CEA zur Aufdeckung einer eingetretenen Fernmetastasierung, vor allem in die Leber, anderen klinischen und laborchemischen Methoden zuweilen überlegen (1,3).

Ebenso ist die Wertigkeit des Plasma - CEA - Spiegels bei der posttherapeutischen Verlaufskontrolle unbestritten (4,15,16). Fehlende Normalisierung oder signifikanter Anstieg erhöhter CEA - Titer innerhalb einer - nach klinischem und histologischem Befund - kurativen Resektion bieten eine erste Hilfe, zurückgebliebenes Tumorgewebe frühzeitig zu erkennen.

2. Spezielle Problemstellung

Bei den Carcinomen des Verdauungstraktes ist eine Früherkennung und frühzeitige Therapie des Primärtumors bzw. des Rezidivs nach wie vor entscheidend für die Prognose.

Die Bestimmung des Plasma - CEA - Titers eignet sich entgegen den ursprünglichen Erwartungen nicht zur Frühdiagnose gastrointestinaler Malignome.

Deshalb untersuchten wir die Bedeutung des ß-2-Mikroglobulins ($ß_2m$) als Tumormarker bei gastrointestinalen Malignomen, wie sie in einigen Berichten (5,7,8,16,23) diskutiert worden war.

Die Überprüfung dieser Berichte erschien von großem Interesse, wobei wir zu diesem Zweck den direkten Vergleich mit dem CEA wählten, um zu sehen, ob die Aussagekraft des $ß_2m$ - Plasmaspiegels dem CEA gleichwertig oder gar überlegen sei, und ob möglicherweise die parallele Bestimmung beider Parameter in der Lage sei, mehr Information zu liefern als die alleinige Bestimmung des CEA - bzw. des $ß_2m$ - Plasmaspiegels.

Des weiteren erschien es indiziert, zur Abklärung der diskutierten Wertigkeit des $ß_2m$ - Plasmaspiegels (7,8,12,13,19,22) im Rahmen der Tumordiagnostik und Nachsorge zu untersuchen, inwieweit auch nicht maligne, d. h. differentialdiagnostisch relevante entzündliche gastroenterologische Erkrankungen zu derartigen Erhöhungen der $ß_2m$ - Plasmakonzentration führen können.

Diesbezüglich war in einzelnen Untersuchungen (12,13, 19) von einer Erhöhung der $ß_2m$ - Serumkonzentration im wesentlichen bei Malignomen und entschieden seltener bei Entzündungsprozessen berichtet worden.

Demnach würde sich hier ein entscheidender Unterschied gegenüber dem carcino - embryonalen Antigen (CEA) ergeben, das auch bei entzündlichen Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts leicht bis mäßig erhöht gefunden wird (2,3,28).

Die Erhöhungen des CEA - Plasmaspiegels bei nicht

malignen Erkrankungen waren in der Regel geringer und meist nur vorübergehend bzw. nicht progredient ansteigend.

Auch fiel auf, daß bei den entzündlichen Erkrankungen, bei denen CEA - Erhöhungen nachgewiesen worden waren (darunter Virushepatitis, alkoholische, chronisch - aktive und chronisch - aggressive Hepatitis; vornehmlich alkoholische, aber auch andere Leberzirrhose, Cholezystitis, peptisches Ulcus, Proctitis, Colitis ulcerosa, Morbus Crohn, Diverticulitis und -ose, gastrointestinale Polypen, akute und chronische Pankreaserkrankungen, sowie Lungenerkrankungen, benigne Brusterkrankungen und rheumatische Arthritis) Erhöhungen des CEA - Plasmaspiegels oberhalb von 5 ng/ml signifikant seltener und über 10 ng /ml nur noch ausnahmsweise anzutreffen sind (28).

Dennoch wäre es bei den differentialdiagnostischen Erwägungen bezüglich der Dignität einer gastrointestinalen Erkrankung ein Vorteil für das ß-2-Mikroglobulin, wenn sich die These verifizieren ließe, daß Erhöhungen des $ß_2m$ - Plasmaspiegels eine größere Spezifität für einen malignen Prozeß haben sollten (12,13,19).

Wir untersuchten deshalb

A) in einer retrospektiven Studie die klinische Wertigkeit der $ß_2m$ - Plasmakonzentration als zusätzliches Hilfsmittel bei der Erstdiagnostik von gastrointestinalen Malignomen und

B) in einer prospektiven Studie die Wertigkeit bei der unmittelbar postoperativen Verlaufskontrolle von Adenocarcinomen des Gastrointestinaltrakts (GI - Adenocarcinome).

Dabei orientierten sich die Untersuchungen an folgenden Fragestellungen:

Fragenkomplex A:

1.) Ist die Plasmakonzentration des ß-2-Mikroglobulins bei Tumoren des Gastrointestinaltrakts gegenüber gesunden Kontrollpersonen erhöht?

2.a) Ist die Plasmakonzentration des $ß_2m$ auch bei differentialdiagnostisch relevanten chronisch entzündlichen gastroenterologischen Erkrankungen erhöht?

b) Bestehen gegebenenfalls deutliche Unterschiede in den $ß_2m$ - Serumkonzentrationen bei Carcinomen und entzündlichen Erkrankungen des Magen - Darm - Trakts?

3.) Lassen sich im positiven Fall von 1.) durch die gleichzeitige Bestimmung der $ß_2m$ - und CEA - Konzentrationen die klinische Spezifität und/ oder die Sensibilität der Tests erhöhen?

Im Fragenkomplex B standen folgende Fragen zur Beantwortung an:

1.) Zeigt das ß-2-Mikroglobulin durch Nichtnormalisierung praeoperativ erhöhter Werte nach Tumorresektion die nichtradikale Resektion an? (unmittelbar postoperativer Verlauf)

2.) Kommt es bei Tumorrezidiv oder Metastasierung bei Zustand nach Resektion eines gastrointestinalen Carcinoms zu einem Anstieg der $ß_2m$ -

Plasmakonzentrationen, und dies möglicherweise vor dem Auftreten sonstiger blutchemischer oder klinischer Symptome? (postoperative Langzeitverlaufskontrolle)

3.) Kann somit bei der Kontrolle des Therapieerfolges durch die parallele Bestimmung des β_2m - und des CEA - Plasmaspiegels eine Erhöhung der Sensibilität und Spezifität der Tests erreicht werden?

B) EXPERIMENTELLER TEIL

1. KRANKENGUT

Das Untersuchungskollektiv bestand aus Patienten mit Adenocarcinomen des Verdauungstraktes sowie Patienten mit entzündlichen gastrointestinalen Erkrankungen. Als Kontrollkollektiv dienten gesunde Raucher und Nichtraucher.

Das gesamte Patientengut setzte sich aus Patienten der Medizinischen und Chirurgischen Universitätskliniken Würzburg zusammen.

Carcinom - Patienten und Kontrollen:

a) Carcinompatienten

Die Gruppe der Patienten mit malignen Erkrankungen des Verdauungstraktes (GI - Adenocarcinim; n = 57; Alter: Mittelwert ($\bar{x}$) $\pm$ Standardabweichung (SD): 61,3 $\pm$ 9,8 Jahre) bestand aus 42 Patienten mit histologisch gesichertem Colon - Rectum - Adenocarcinom (Alter: 61,5 $\pm$ 11,9 Jahre) und 15 Patienten mit histologisch gesichertem Adenocarcinom des Magens (Alter: 61 $\pm$ 7,7 Jahre).

Die Carcinome lagen zum Untersuchungszeitpunkt in verschiedenen Stadien vor. Die Stadieneinteilung wurde mit Hilfe des intraoperativ erhobenen Befundes und der histologischen Befundung des Resektionsmaterials erstellt.

Dabei fand für die Colon - Rectum - Carcinome die Einteilung nach DUKES (10) Verwendung.

DUKES A: Tumor lokalisiert, Muscularis mucosae intakt
DUKES B: Tumor lokalisiert, Muscularis mucosae durchbrochen
DUKES C: Lymphknoten mitbefallen
DUKES D: Fernmetastasen

Die Ausdehnung der Magencarcinome wurde, da die Operationsberichte nicht immer eine TNM - Klassifikation erlaubten, in drei Stadien eingeteilt:

1. Stadium: Tumor lokal begrenzt, bis mandarinengroß
2. Stadium: Tumor lokal begrenzt, bis faustgroß
3. Stadium: ausgedehnt und inoperabel und / oder mit Fernmetastasen

b) Kontrollkollektive

1) Gesunde:

Die gesunden Kontrollpersonen (n = 36; Alter: 29,0 ± 9,7 Jahre) bestanden aus klinisch gesunden Nichtrauchern (n = 26; Alter: 27,5 ± 10,7 Jahre) und Rauchern (n = 10; Alter: 30,5 ± 10 Jahre; Konsum von mindestens 20 Zigaretten pro die).

2) Entzündliche gastrointestinale Erkrankungen

Das Kontrollkollektiv der entzündlichen gastrointestinalen Erkrankungen (n = 55) setzte sich zusammen aus folgenden drei Untergruppen:

- GI - Entzündung (n = 13; Alter: 48,4 ± 14,2 Jahre): Patienten mit entzündlichen Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts.

Darunter waren chronische Pankreatitis (n = 5)
Diverticulitis coli (n = 3)

entzündete benigne Colonadenome (n = 2)
chronisch atrophische Gastritis (n = 1)
Ulcus ventriculi (n = 1)
und Polyposis intestini (n = 1)
subsummiert.

- Morbus Crohn: (n = 23; Alter: 31,7 $\pm$ 13,8 Jahre)
  Patienten mit Morbus Crohn

- Colitis ulcerosa: (n = 21; Alter: 33,6 $\pm$ 15,8 Jahre)
  Patienten mit Colitis ulcerosa

2. METHODIK

Die Plasma - β_2m - Konzentration wurde mit dem Radioimmunoassay nach EVRIN et al. (11) und die CEA - Konzentration im Plasma mit dem Zirkonyl - Phosphat - Radioimmunoassay nach HANSEN et al. (14) bestimmt.

Alle Ansätze wurden als Doppelbestimmung durchgeführt. Des weiteren wurden in alle Tests von den Kit - Herstellern zur Verfügung gestellte Referenz - Seren eingeschlossen.

Bei den posttherapeutischen Verlaufskontrollen wurden die neuen Plasmaproben jeweils mit der zeitlich unmittelbar vorangegangenen Plasmaprobe gleichzeitig untersucht.

Nur Probanden mit einem Kreatinin - Plasmaspiegel unter 1,2 mg% wurden in die Studie eingeschlossen.

2.1 Bestimmung der $ß_2m$ - Plasmakonzentration:

Phadebas Beta - Mikro - Test, Deutsche Pharmacia, Freiburg

a) Testprinzip:

An spezielle Sephadex - Partikel als Trägermatrix sind Anti - $ß_2m$ - Antikörper angekoppelt. Zur Ermittlung der Konzentration von ß-2-Mikroglobulin in einer Testprobe wird bestimmt, in welchem Ausmaß das in ihr enthaltene ß-2-Mikroglobulin die Antikörperbindungsstellen für das im Ansatz in konstanter Menge zugesetzte radioaktiv markierte $ß_2m$ blockiert.

Die Kapazität der Blockierung der Testprobe wird dann mit der von Eichproben einer parallel laufenden Eichserie verglichen, zu der Verdünnungen eines ß-2-Mikroglobulinstandards von bekanntem Gehalt eingesetzt werden.

Im Testgang werden zunächst die Proben mit einer bestimmten Menge an ß-2-Mikroglobulin - ^{125}Jod - Lösung und einer Suspension an Immunosorbens (Sephadex - Anti - $ß_2m$ - Komplex) gemischt und während 3 Stunden bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubiert.

Anschließend werden gebundenes und freies $ß_2m$ durch Zentrifugieren getrennt und das im Überstand verbliebene freie Protein entfernt.

Dann wird die von den Immunosorbenspartikeln gebundene Radioaktivität gemessen. Sie variiert invers mit der in den Test - und Eichproben enthaltenen Menge an unmarkiertem ß-2-Mikroglobulin.

b) Arbeitsanleitung:

1. Vorbereiten der Proben

Vor dem Test müssen die Serum - und Plasmaproben mindestens auf das 200 - fache mit Puffer verdünnt werden, z. B. 50 µl Probe + 10,0 ml Puffer. Falls höhere Werte zu erwarten sind, ist entsprechend stärker - eventuell bis zum 1000 - fachen - zu verdünnen.

2. Ansetzen der Eichlösungen

Aus der ß-2-Mikroglobulin - Standard - Lösung mit 96 µg/l als Stammlösung werden durch Verdünnen mit Puffer gemäß nachstehendem Schema Eichlösungen der Endkonzentrationen 96, 48, 24, 12, 6,0 und 3,0 µg ß-2-Mikroglobulin hergestellt.

Falls der Testsatz für eine zweite Bestimmungsreihe verwendet werden soll, können diese Eichlösungen bis zum Verfalldatum bei -20 °Celsius aufbewahrt werden.

3. Arbeitsvorschriften

Für den Test sind Plastikröhrchen mit Rundboden und Mikropipetten mit Plastikspritzen zu verwenden.Es sind stets Doppelbestimmungen anzusetzen. In jedem Testgang ist eine Eichserie mitzuführen.

Eichlösung	Konz.	Zugabe von		Endvolumen
		Puffer	Standard - od. Eichlösung	
	µg/l	ml	ml	ml
A (Stammlsg.)	96	--	--	1,0
B	48	1,0	1,0 von A	1,0
C	24	1,0	1,0 von B	1,0
D	12	1,0	1,0 von C	1,0
E	6,0	1,0	1,0 von D	1,0
F	3,0	1,0	1,0 von E	2,0
G "leer"	0	1,0	--	1,0

4. Arbeitsgang

1. Von den Eichlösungen A bis G werden jeweils 100 µl in die Röhrchen Nr. 1 - 14 pipettiert.

2. Von den zu bestimmenden Proben werden jeweils 100 µl in die Röhrchen ab Nr. 15 pipettiert.

3. In alle zum Ansatz gehörenden Röhrchen sowie in die beiden mit T_1 und T_2 bezeichneten werden je 100 ul der β_2m - ^{125}Jod - Lösung pipettiert.

Die mit T_1 und T_2 gekennzeichneten Röhrchen werden sofort verschlossen und beiseite gestellt, da sie nur für die Ermittlung der totaleingesetzten Aktivität bestimmt sind.

4. In jedes der mit Eichlösung oder Probe versehenen Röhrchen werden 100 µl der Suspension des Sephadex - Anti - β_2m - Komplexes pipettiert. Während der Entnahme muß die Suspension ständig mittels Magnetrührer gerührt werden.

5. Nach sorgfältigem Durchmischen werden die Röhrchen mit Folie abgedeckt und auf einem Schüttler während 3 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.

Röhrchen Nr.	Inhalt µg/l	Eichlösung µl	Proben µl	β_2m-^{125}J µl	Sephadex-Komplex µl
1 - 2	A 96	100	--	100	100
3 - 4	B 48	100	--	100	100
5 - 6	C 24	100	--	100	100
7 - 8	D 12	100	--	100	100
9 -10	E 6,0	100	--	100	100
11 -12	F 3,0	100	--	100	100
13 -14	G 0	100	--	100	100
15 -16	Probe 1	--	100	100	100
17 -18	Probe 2	--	100	100	100
usw.	usw.				
T_1T_2	Gesamt-aktivität	--	--	100	--

6.1 Alle Teströhrchen ab Nr. 1 werden mit 2 ml Saline versetzt.

6.2 Die Röhrchen werden 2 Minuten bei 2000 g zentrifugiert.

6.3 Der Überstand wird bis auf einen Rest von etwa 5 mm über dem Röhrchenboden abgesaugt, ohne daß vom Bodensatz etwas mit entfernt wird.

Der gesamte Waschprozeß ist insgesamt dreimal auszuführen. Die Teströhrchen bleiben dabei in der Zentrifuge.

7. In allen Röhrchen ab Nr. 1 und in den mit T_1 und T_2 gekennzeichneten wird die Radioaktivität mit einem Gammazähler gemessen.

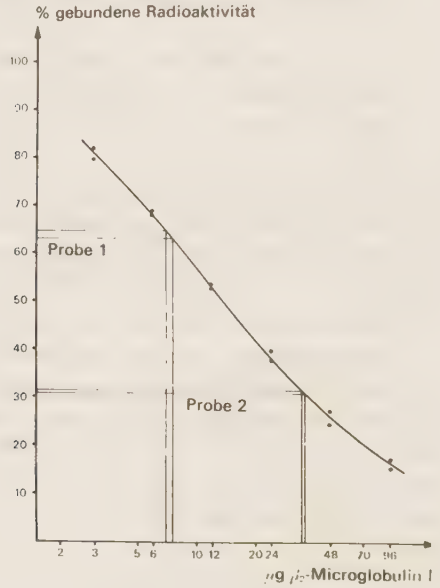
Wird ein Gammazähler mit einer Zählausbeute von 50% benutzt, so sind Zählzeiten von 2 bis 5 Minuten pro Röhrchen ausreichend. Zur Ermittlung des Nulleffekts wird ein leeres Röhrchen eingesetzt.

c) Auswertung des Tests:

1. Aus den Zählraten (CT) werden für jede Eichprobe die Prozentwerte (Y) der Radioaktivitätsbindung berechnet, wobei auf die mittlere Zählrate (MCR) der Leerprobe bezogen wird. Gegebenenfalls ist vorher der Nulleffekt von den Zählraten abzuziehen.

$$Y = \frac{\text{CR der Eichprobe}}{\text{MCR der Leerprobe}} \times 100$$

2. Die so für die Eichproben ermittelten Prozentwerte werden gegen den Logarithmus der β_2m - Konzentration auf ein lin - log - Diagrammpapier aufgetragen und die Eichkurve gezogen. Sie dient so als Kontrolle für die richtige Funktion und Ausführung des Tests.



Eichkurve

3. Wie für die Eichproben beschrieben, werden nun die Zählraten (CR) jeder unbekannten Probe auf die mittlere Zählrate (MCR) der Leerproben bezogen und die Prozentwerte (Y) ausgerechnet.

4. Die β_2m - Konzentration jeder unbekannten Probe wird direkt in µg/l aus der Eichkurve abgelesen und aus den Doppelbestimmungen der Mittelwert berechnet.

5. Ist die Probe verdünnt worden, ist dieser Wert noch mit dem Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

d) Meßbereich:

Die Eichkurve überdeckt den Bereich von 3 bis 96 µg/l. Entsprechend ergibt sich für die bei normalen Serumproben empfohlene Verdünnung auf das Zweihundertfache ein Testbereich von 0,6 bis 20 mg β_2m/l.

Konzentrationen außerhalb dieser Bereiche lassen sich nach geeigneter Vorverdünnung ebenfalls messen.

e) Normalwerte:

Der Normalbereich im Serum ist gemäß den Angaben des Kit - Herstellers (Pharma Diagnostics Uppsala/ Schweden) wie folgt:

	Mittelwert	Normalbereich
Serum	1,6 mg/l	1,1 - 2,4 mg/l

Der Normalbereich ist aus dem Mittel $\pm$ 2s der log-transformierten Meßwerte berechnet worden. Er korreliert gut mit den von EVRIN und WIBELL (12) publizierten ß-2-Mikroglobulinwerten sowie den im Rahmen dieser Studie selbst ermittelten Werten.

2.2 Bestimmung der CEA - Plasmakonzentration:

CEA - Roche - Test, Fa. Hoffman-La Roche und Co. AG, Diagnostica, 4133 Schweizerhalle

a) Testprinzip:

Die Plasma - CEA - Konzentration wurde nach der von HANSEN entwickelten Zirkonylphosphatgelmethode (14) ermittelt.

Dabei werden zunächst die störenden Plasma - Proteine mit Perchlorsäure ausgefällt und nach Zentrifugation abgetrennt. Anschließend werden Säuren und Elektrolyte durch Dialyse entfernt.

Dann wird dem zu untersuchenden Plasma ein CEA - Antikörper - Standard zugesetzt. Das eventuell vorhandene CEA reagiert mit den CEA - Antikörpern und bildet CEA - Antigen - CEA-Antikörper - Komplexe. Je nach der im Plasma vorhandenen CEA - Antigenmenge werden in der Probe viele, wenige oder überhaupt keine freien CEA - Antikörper übrigbleiben.

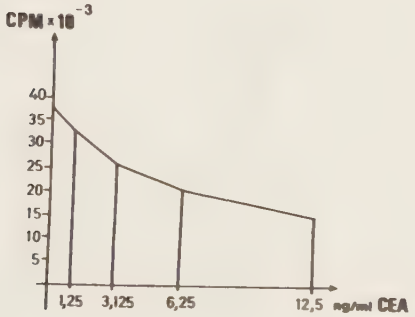
Es erfolgt nunmehr die Zugabe einer standardisierten Menge von radioaktiv markiertem 125 - Jod - CEA, welches mit den noch freien CEA - Antikörpern reagiert.

Das an die Antikörper gebundene Plasma - CEA bzw. das an die freigebliebenen Antikörper gebundene markierte 125 - Jod - CEA wird mittels Zirkonyl - Phosphat - Gel vom freien CEA bzw. freien 125 - Jod - CEA abgetrennt. Zirkonyl - Phosphat hat die Eigenschaft, Proteine mit einem isoelektrischen Punkt über 6,7 und somit auch die Immunglobuline zu binden.

Die Aktivität des Z - Gel - gebundenen Immunkomplexes wird im Gamma - Szintillationszähler bestimmt. Je weniger CEA im Plasma vorhanden war, um so höher ist die Radioaktivität der gebundenen Fraktion und umgekehrt.

Anhand einer Eichkurve, die mit definierten CEA - Standards erstellt worden ist, kann der CEA - Gehalt einer jeden Probe als indirekte Funktion der "Counts per minute" (CPM) ermittelt werden.

Die Standardeichkurve hatte, wie die nachstehende Abbildung zeigt, immer ein typisches Aussehen.

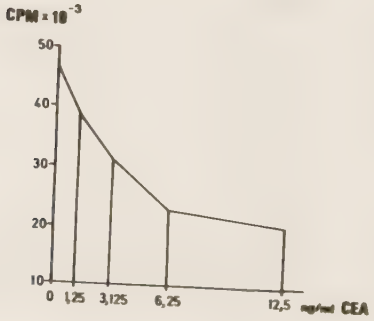


Standardkurve bei der indirekten Methode

Aufgrund des asymptotischen Verlaufes im höheren Konzentrationsbereich sind bei dem oben angegebenen Verfahren jedoch nur Werte bis 20 ng/ml hinreichend genau ablesbar.

Werden höhere Plasma - CEA - Spiegel festgestellt, so wird der Test mit entsprechend verdünntem Patientenplasma unter Verzicht auf die Perchlorsäure-Extraktion wiederholt.

Die Standardkurve bei dieser direkten Methode hatte eine andere typische Konfiguration als die des indirekten Tests (vgl. Abbildung).



Standardkurve bei der direkten Methode

b) Arbeitsgang:

Die Testreagenzien wurden von der Firma Hoffman-LaRoche bezogen. Zur Blutentnahme wurden Kunststoffröhrchen mit 13 mm Innendurchmesser und 100 mm Länge verwendet, die für die CEA - Tests hergestellt wurden und Natrium - EDTA enthalten.

1. CEA - Extraktion und Dialyse:

Verdünnung von 0,5 ml Plasma mit 2 ml 0,9%iger Kochsalzlösung; Zugabe von 2,5 ml 1,2 M kühlschrankgelagerter Perchlorsäurelösung; zwanzigminütige Zentrifugation bei 1000 g; Dekantierung der Überstände in angefeuchtete "Visking" - Dialysierschläuche 20/32 (SERVA Feinbiochemica, Heidelberg); Kennzeichnung der Dialyseschläuche; Fixierung in einem Drahtgestell; Einbringung in ein 6 l Wasserbad mit entionisiertem Wasser (Leitfähigkeit $<0{,}2\ \mu S/cm$); konstante Durchmischung durch einen Magnetrührer; dreimaliges Wechseln des Dialysebades in einem Mindestabstand von drei und Maximalabstand von 12 Stunden, wobei im letzten Dialyseschritt statt Wasser 0,01 M Ammoniumacetatlösung mit einem pH von 6,8 verwendet wurde; Einfüllen des Dialysats in beschriftete Teströhrchen.

2. Ansetzen der CEA - Standardlösungen zur Erstellung einer Eichkurve:

Zu je 5 ml EDTA - Pufferlösung (Rinderserumalbumin enthaltend, pH 6,5 $\pm$ 0,1) wurden 0,10,25,50 und 100 μl der 125 ng/ml CEA enthaltenden Standardlösung pipettiert.

3. Antigen - Antikörperreaktion:

Aufteilung der 30 (20) Patienten- und 10 Standardproben auf 4 (3) je 10 Röhrchen fassende Reagenzglasständer; Bearbeitung der 4 (3) Kompartimente in gleicher Weise mit einer zeitlichen Versetzung von 5 Minuten wie folgt:

Zugabe von 25 ul CEA - Antiserum; 30minütige Inkubation im Wasserbad bei 45° C; Zugabe von 25 µl ^{125}J - CEA (Aktivität ca. 50 ng/ml); nochmalige 30minütige Inkubation; Zugabe von 2,5 ml gleichmäßig dispergiertem Zirkonyl - Phosphat - Gel mittels automatischem Dosiergerät; fünfminütige Zentrifugation bei 1000 g; Abgießen des radicaktiven Überstandes in einen Isotopenabfallbehälter; erneute Dispergierung des Z - Gel - Sediments mit 5 ml 0,1 M Ammoniumacetatlösung; fünfminütige Zentrifugation bei 1000 g und anschließende Verwerfung des Überstandes.

c) Auswertung des Tests:

Messung der im Z - Gel - Sediment enthaltenen Radioaktivität der Proben während einer Minute in einem Gammaszintillationszähler des Typs BERTHOLD, Power-Supply BF 1015 - 2; Errechnung der prozentualen Abweichung und des Mittelwertes der Doppelbestimmungen; Zeichnen einer Inhibitionskurve nach den CPM's der CEA - Standardproben; Ermittlung des CEA - Gehalts der Patientenproben als indirekte Funktion der CPM's der Inhibitionskurve; Berechnung der CEA - Plasmakonzentration.

Bei jedem Test wurden zwei bis drei Plasmaproben mit

bekannter CEA - Konzentration mitbestimmt. Durch Stichproben wurde regelmäßig untersucht, ob der pH - Wert der Dialysate und der CEA - Standardproben im Toleranzbereich von pH 6,5 $\pm$ 0,2 lag. Wenn CPM - Differenzen von mehr als 10% bei den Doppelbestimmungen vorlagen, wurde die Probe nicht verwertet.

3. STATISTIK

Die Ergebnisse sind wiedergegeben in Mittelwerten ($\bar{x}$) $\pm$ 1 Standardabweichung (1 SD).

Die Signifikanz der Differenz zwischen zwei Gruppen wurde mit Hilfe des Student - t - Tests, die Signifikanz von Korrelationen mit der Regressionsanalyse ermittelt.

C) ERGEBNISSE

1. RETROSPEKTIVE STUDIE ZUR ERSTDIAGNOSE GASTRO-INTESTINALER ADENOCARCINOME

1.1 Plasmakonzentrationen von β_2m und CEA bei Tumoren des Gastrointestinaltraktes:

Wie aus Abbildung 1a zu ersehen ist, unterschied sich die Verteilung der Relativfrequenz der β_2m - Plasmakonzentrationen bei Gesunden durchaus von der der Patienten mit Adenocarcinomen des Verdauungstraktes (GI - Adenocarcinom).

Analog dazu lag der Mittelwert der β_2m - Plasmakonzentration der Gesamtgruppe der Tumorpatienten mit $2{,}24 \pm 0{,}94$ mg/l (Magencarcinom ($\bar{x} \pm$ 1SD): $2{,}14 \pm 0{,}75$; Colon - Rectum: $2{,}24 \pm 0{,}11$ mg/l) signifikant ($p < 0{,}05$) über dem der Gesunden mit $1{,}59 \pm 0{,}46$ mg/l.

1.2 Plasmakonzentrationen von β_2m und CEA bei entzündlichen Darmerkrankungen:

Abbildung 1b zeigt jedoch, daß auch bei zwei der drei Untergruppen des Kontrollkollektivs mit entzündlichen gastroenterologischen Erkrankungen

Abb. 1a

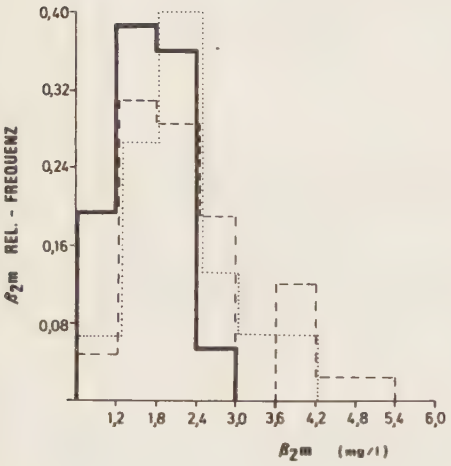


Abb. 1b

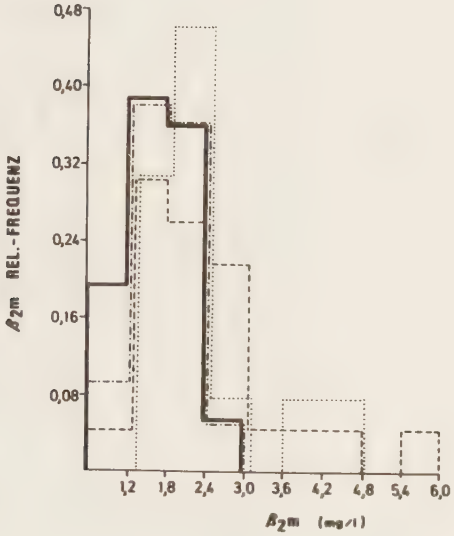


Abb. 1:

Verteilung der Relativfrequenz der $ß_2$m - Konzentrationen bei

a) Gesunden (————) und Patienten mit GI - Adenocarcinomen:
Colon - Rectum - Carcinome – – – – –,
Magencarcinome .....

b) Gesunden (————) und Patienten mit entzündlichen gastrointestinalen Erkrankungen:
GI - Entzündung .....
Morbus Crohn – – – – –
Colitis ulcerosa –.–.–.–.–

(nämlich in den Gruppen der GI - Entzündung und des Morbus Crohn) ebenfalls ein klarer Trend zu höheren als normalen $ß_2m$ - Plasmakonzentrationen vorlag, was sich sowohl an der Verteilung der Relativfrequenz als auch an den Mittelwerten manifestierte (GI - Entzündung: 2,30 $\pm$ 0,95 mg/l, $p<0,05$; Morbus Crohn: 2,39 $\pm$ 1,12 mg/l, $p<0,01$. Dagegen Colitis ulcerosa: 1,71 $\pm$ 0,43 mg/l, n.s.).

Eine signifikante Korrelation zwischen den Plasmakonzentrationen des $ß_2m$ und des CEA bestand sowohl in der Gesamtgruppe der Tumorpatienten ($r = + 0,2493$; $n = 57$; $p<0,05$), als auch in der Gruppe der Patienten mit entzündlichen Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts außer Morbus Crohn und Colitis ulcerosa, wie aus Abb. 2a zu ersehen ist (GI - Entzündung: $r = + 0,7030$; $n = 13$; $p<0,01$).

Zudem korrelierte in diesen Gruppen die $ß_2m$ - Plasmakonzentration positiv mit der Leukozytenzahl (GI - Adenocarcinom: $r = 0,2869$; $n = 57$; $p<0,05$. GI - Entzündung: $r = + 0,5958$; $n = 13$; $p<0,05$), vgl. Abb. 2b.

Für die Untergruppe der Patienten mit Morbus Crohn wurden die $ß_2m$ - Plasmakonzentrationen zusätzlich noch nach dem Aktivitätsindex dieser Erkrankung aufgeschlüsselt (Crohn's disease activity index = CDAI), um die soeben von DESCOS et al. (9) aufgestellte These zu untersuchen, daß der Plasmaspiegel des ß-2-Mikroglobulin neue Aufschlüsse über den Aktivitätsgrad der Crohnschen Erkrankung zu bieten imstande sei.

Bei unseren 23 Patienten mit Morbus Crohn (Alter: 31,7 $\pm$ 13,8 Jahre) war nun zwar der Mittelwert der $ß_2m$ - Plasmaspiegel mit 2,39 $\pm$ 1,12 mg/l signifikant

Abb. 2a

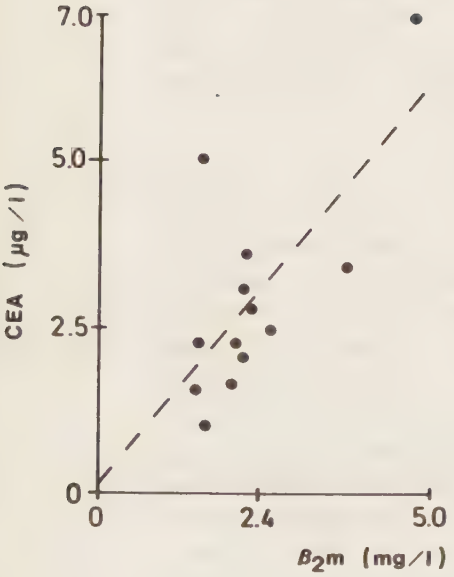


Abb. 2b

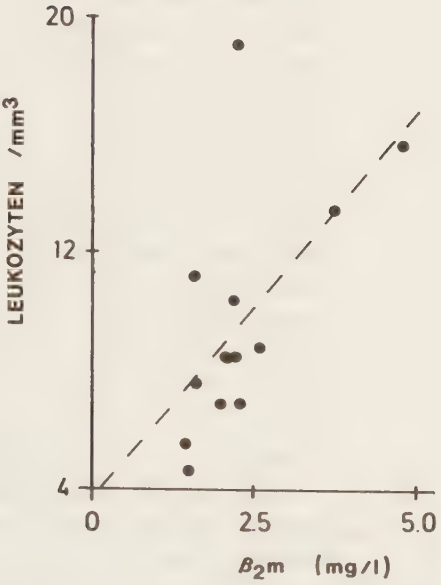


Abb. 2:

2a) Korrelation der β_2m - Plasmakonzentration mit der des CEA bei Patienten mit chronisch entzündlichen gastrointestinalen Erkrankungen außer Morbus Crohn und Colitis ulcerosa

2b) Korrelation der Plasmakonzentration des β_2m mit der Leukozytenzahl / mm^3 bei Patienten mit chronisch entzündlichen gastrointestinalen Erkrankungen außer Morbus Crohn und Colitis ulcerosa.

höher ($p<0,01$) als der der 36 gesunden Kontrollpersonen (Alter: 29,0 $\pm$ 9,7 Jahre; mittlere β_2m - Plasmakonzentration: 1,59 $\pm$ 0,46 mg/l); eine Korrelation zwischen dem β_2m - Plasmaspiegel und dem Aktivitätsindex des Morbus Crohn (CDAI) ließ sich jedoch - wie Abbildung 3a zeigt - nicht nachweisen ($r = -1,541$; $n = 23$; n.s.).

Im Gegensatz dazu fand sich, wie Abbildung 3b zeigt, bei der Bestimmung der Plasmaspiegel des carcino - embryonalen Antigens (CEA) bei genau denselben Patienten mit Morbus Crohn eine sehr gute Korrelation zwischen den CEA - Plasmakonzentrationen und dem CDAI ($r = +0,5565$; $n = 23$; $p<0,0$), was die Ergebnisse früherer Untersuchungen (25,26) bestätigt.

Aufgrund des oben erwähnten Trends zu höher als normalen β_2m - Plasmakonzentrationen bei entzündlichen gastroenterologischen Erkrankungen wurde zur Tumordiagnostik eine klinische Relevanzgrenze für ß-2-Mikroglobulin von 3,0 mg/l festgelegt, die dem $\bar{x} \pm$ 1SD der Gesunden entsprach (5).

Wegen des gleichen, jedoch bereits bekannten Befundes bei den CEA - Plasmakonzentrationen (Gesunde: 1,79 $\pm$ 1,2; Morbus Crohn: 2,4 $\pm$ 1,38, $p<0,05$; GI - Entzündung: 2,87 $\pm$ 1,59, $p<0,05$; Colitis ulcerosa: 2,36 $\pm$ 2,1, $p<0,05$) wurde für dieses eine Grenze von 5,0 ug/l festgesetzt.

1.3 Abhängigkeit der β_2m - Plasmakonzentration von der Tumorausdehnung:

Bei den Colon - Rectum - Carcinompatienten fand sich eine Erhöhung der β_2m - Plasmakonzentration

Abb. 3a

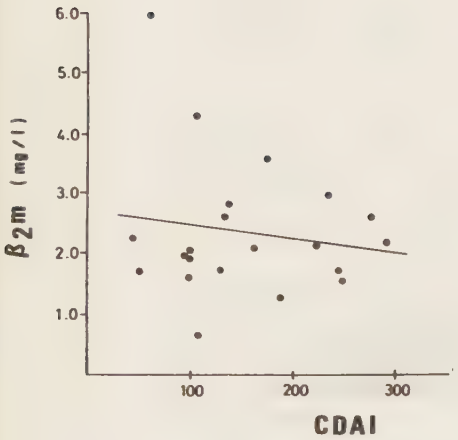


Abb. 3b

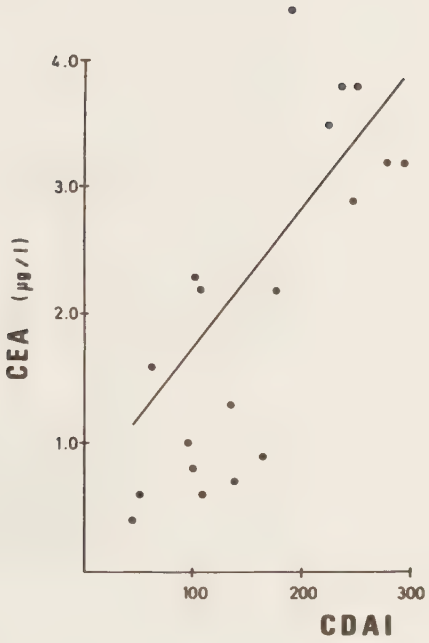


Abb. 3:

Verteilung der Relativfrequenz a) der $ß_2m$ - Plasmaspiegel
b) der CEA - Plasmaspiegel

bei Patienten mit Morbus Crohn in Abhängigkeit vom Aktivitätsindex (CDAI).

Über die klinische Relevanzgrenze (>3,0 mg/l) wie auch über die Normalgrenze (> 2,4 mg/l) in einem wesentlich geringeren Prozentsatz, als dies beim CEA (>5,0 bzw. 2,5 ug/l) beobachtet wurde (siehe Tabelle 1).

Dabei zeigten die Plasmakonzentrationen beider Antigene eine deutliche Abhängigkeit von der Tumorausdehnung (vgl. Abb. 4 und Tabelle 1).

Bei den Magencarcinomen lagen 37% der β_2m - Werte über der Normalgrenze und 25% über der klinischen Relevanzgrenze, wenn der Tumor noch radikal resezierbar war. Beim CEA waren dies 25% bzw. 12%.

Bei nicht radikal resezierbaren Magencarcinomen überstiegen die β_2m - Titer jedoch in keinem Fall die klinische Relevanzgrenze und in 17% die Normalgrenze, im Gegensatz zu 12% bzw. 33% beim CEA.

So zeigten selbst zwei Patienten, bei denen bereits eine Filialisierung in die Leber stattgefunden hatte, was von CEA - Werten von 215 bzw. 240 µg/l begleitet war, lediglich β_2m - Konzentrationen von 1,9 bzw. 2,6 mg/l.

1.4 Aussagekraft der Parallelbestimmung von β_2m und CEA

Durch die Parallelbestimmung der beiden Antigene stieg die Frequenz der "Hinweise auf Malignom" gegenüber den durch das CEA allein gegebenen Hinweisen nur unwesentlich an, wenn die Erhöhung wenigstens eines der beiden Antigene als Hinweis verwendet wurde (Spalte 3 vs. 2 in Tabelle 1). Bei den Magencarcinomen trat dies nur ganz vereinzelt auf.

Abb. 4

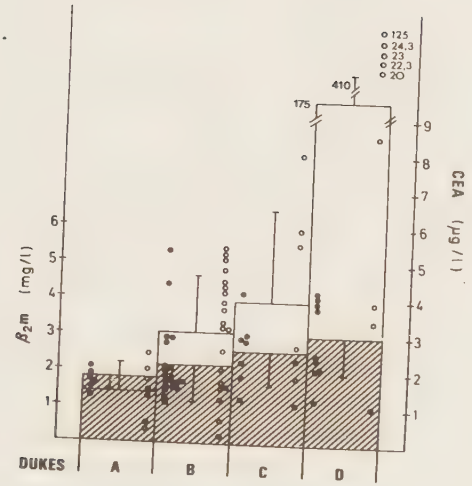


Abb. 4:

Plasmakonzentrationen des β_2m (▪▪) und des CEA (oo) bei Colon - Rectum - Carcinomen in Abhängigkeit von der Ausdehnung.

DUKES A: Tumor lokalisiert, Muscularis mucosae intakt
DUKES B: Tumor lokalisiert, Muscularis mucosae durchbrochen
DUKES C: Lymphknoten befallen
DUKES D: Fernmetastasen

Zwischen den Plasmakonzentrationen des β_2m und des CEA bestand eine signifikante Korrelation in der Gesamtgruppe der Tumorpatienten, sowie in der Gruppe der Patienten mit entzündlichen GI - Erkrankungen außer Morbus Crohn und Colitis ulcerosa (vgl. dazu Absatz 1.2 und Abb. 2).

2. POSTOPERATIVE VERLAUFSKONTROLLE

2.1 Unmittelbar postoperative Verlaufskontrolle

Zur Beurteilung der Radikalität des chirurgisch - therapeutischen Eingriffs wurden in einer prospektiven Studie bei 41 Patienten mit Adenocarcinom des Verdauungstrakts die Plasmakonzentrationen des β_2m und gleichzeitig des CEA sowohl praeoperativ als auch nach den ersten vier postoperativen Monaten bestimmt.

Dabei zeigte sich, daß von den 12 palliativ oder nicht radikal resezierten Adenocarcinompatienten vier Monate postoperativ die Plasmakonzentrationen des CEA bzw. β_2m gegenüber dem praeoperativen Wert bei 6 (CEA) bzw. 5 (β_2m) Patienten angestiegen waren, bei 2 bzw. 5 waren diese unverändert und bei 4 bzw. 2 Patienten abgefallen.

Dabei waren die Erhöhungen der β_2m - Plasmakonzentrationen selbst bei stark angestiegenen CEA - Wer-

ten relativ gering ausgeprägt, so z. B. 3,96 mg/l β_2m vs. 86 µg/l CEA, oder 3,72 vs. 17,3; oder 4,82 vs. 18.

Selten wurde der umgekehrte Trend beobachtet, wie z. B. 7,1 mg/l β_2m vs. 4,6 µg/l CEA.

In der zweiten Gruppe der nach chirurgischer und histopathologischer Beurteilung radikal resezierten 23 Colon - Rectum - Carcinomen und 6 Magencarcinomen hatten sich in den vier postoperativen Monaten demgegenüber die CEA - Werte bei 20 (i.e. 87%) bzw. 5 Patienten (i.e.83%), die β_2m - Werte bei 13 (56%) bzw. 2 (34%) normalisiert.

In Abbildung 5 wird an sechs repräsentativen Einzelfällen verdeutlicht, wie innerhalb der ersten vier postoperativen Monate bei einem Großteil (21 von 29) dieser Patienten ein Anstieg der β_2m - Konzentration weit über die praeoperativen Werte hinaus auffiel, bevor es zur Normalisierung derselben kam. Bei 44% der Patienten war diese aber selbst nach 4 Monaten (Abb. 5, Pat. 1,2,5) noch nicht erreicht.

Für CEA wurde dieses Phänomen des postoperativen Anstiegs bei nur 10 von 29 Patienten, und dann nur kurzfristig beobachtet.

2.2 Postoperative Langzeitverlaufskontrolle

Im weiteren Verlauf des bis zu 24 Monaten dauernden Beobachtungszeitraums wurde bei 3 der 23 Colon-

Abb. 5

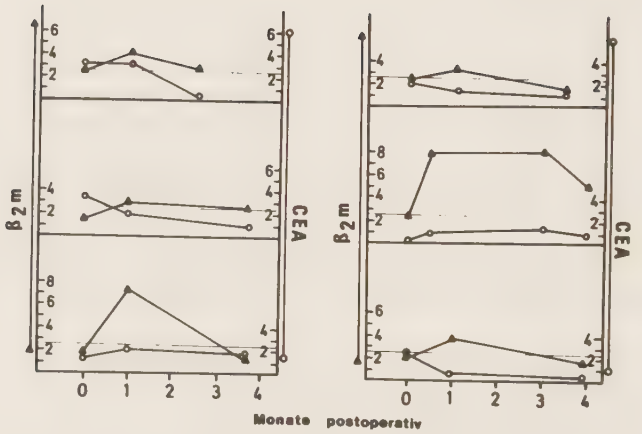


Abb. 5:

Repräsentative Beispiele des unmittelbar postoperativen Verlaufs der Plasmakonzentration des β_2m (••) und des CEA (oo) bei radikal resezierten Colon - Rectum - Carcinompatienten.

Rectum - Carcinompatienten und bei einem der 6 Magencarcinompatienten deutlich, daß entgegen der ursprünglichen Erwartung nicht radikal reseziert worden war.

Wie Abbildung 6 zeigt, imponierten 2 dieser Patienten durch fehlende Normalisierung der praeoperativ erhöhten CEA - Werte innerhalb der ersten 4 postoperativen Monate und 1 Patient durch eine kontinuierlich ansteigende Verlaufstendenz; ein Patient zeigte ähnliches Verhalten der β_2m - Plasmakonzentration.

Bei einem dieser letztlich nicht radikal resezierten Tumorpatienten jedoch hatten sich beide Antigene normalisiert (Pat. 4 in Abb. 6).

Abb. 6

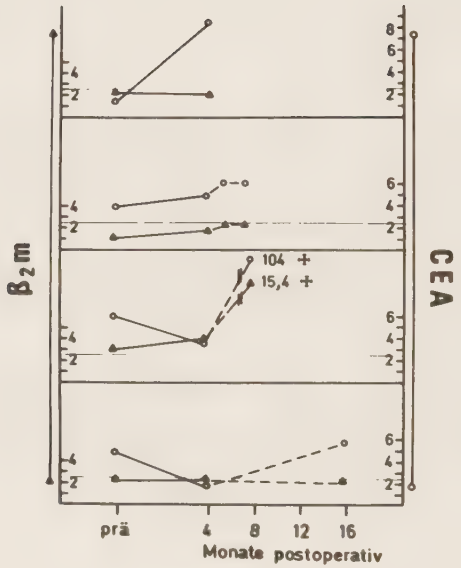


Abb. 6:
Postoperativer Verlauf der Plasmakonzentration des β_2m (•••) und des CEA (ooo) bei zunächst als radikal reseziert angesehenen, jedoch offensichtlich inkomplett resezierten GI - Carcinompatienten (Pat. 1 bis 3: Colon - Rectum - Carcinom, Pat. 4 Magencarcinom).

D) DISKUSSION

1. KLINISCHE WERTIGKEIT DES ß-2-MIKROGLOBULIN-SPIEGELS BEI DER ERSTDIAGNOSTIK VON MALIGNOMEN

1.1 Einfluß der Entzündung am Gastrointestinaltrakt auf die $ß_2m$ - Plasmakonzentration

Die klinische Bedeutung des CEA - Plasmaspiegels bei der Primärdiagnose gastrointestinaler Adenocarcinome war nach den bisher durchgeführten Untersuchungen aus zwei Gründen eingeschränkt (1, 3,27):

a) Erhöhungen der CEA - Plasmakonzentration traten, wie auch diese Studie bestätigte, nicht nur bei Carcinomen des Verdauungstraktes, sondern auch bei benignen gastroenterologischen Erkrankungen auf (1,3,28, Übersicht bei 2).

Da dies insbesondere bei solchen entzündlichen Erkrankungen der Fall war, die bei Verdacht auf Malignom des Verdauungstraktes zur Diskussion stehen, war für die Verwendung der CEA - Plasmakonzentration zur Primärdiagnose von Carcinomen des Verdauungstrakts die Festlegung einer klinischen Relevanzgrenze von wenigstens 5 µg/l notwendig (3).

b) Zum zweiten steht die Plasma - CEA - Konzentration in deutlicher Beziehung zur Tumorausdehnung.

So beschränkt sich die diagnostische Zusatzinformation bei der Primärdiagnose von gastroenterologischen Malignomen weitgehend auf die frühzeitige Erkennung einer bereits eingetretenen, klinisch jedoch noch nicht manifesten Fernmetastasierung (3).

Diese Mängel sollte nach einzelnen Angaben der Literatur (8,11,13,19) ein anderes Antigen, das ß-2-Mikroglobulin, insoweit ausgleichen, als dabei die Plasmakonzentrationen bei entzündlichen Erkrankungen nur selten erhöht gefunden würden, und somit eine gegenüber dem CEA erhöhte Tumorspezifität erreicht würde.

In unserer Untersuchung wurden jedoch drei Befunde erhoben, die den eindeutigen Einfluß entzündlicher gastrointestinaler Prozesse auf die $ß_2m$ - Konzentration im Plasma zeigten:

a) Das Verteilungsmuster der Relativfrequenz der $ß_2m$ - Konzentration im Plasma von Patienten mit entzündlichen gastroenterologischen Erkrankungen außer Morbus Crohn und Colitis ulcerosa (GI - Entzündungen) und von Patienten mit Morbus Crohn (60% >2,4 mg/l),

b) die hochsignifikante Korrelation der $ß_2m$ - Konzentration mit der bekanntlich durch gastrointestinale Entzündungsprozesse stark beeinflußten CEA - Plasmakonzentration in der Gruppe von Patienten mit entzündlichen gastroenterologischen Erkrankungen und

c) die signifikante Korrelation der β_2m - Plasmakonzentration mit der absoluten Leukozytenzahl bei diesen Patienten (vgl. Abb. 2).

Nach den Berichten von DESCOS et al. (9) sollte bei Patienten mit Morbus Crohn der β_2m - Plasmaspiegel weitere Aufschlüsse über den Aktivitätsgrad dieser Erkrankung geben.

Sie hatten in ihren Untersuchungen eine positive Korrelation des β_2m - Serumspiegels mit der Krankheitsaktivität gefunden und daraus geschlossen, daß die Bestimmung der Serumspiegel dieses Proteins möglicherweise einen wichtigen Beitrag zur Therapieüberwachung aus immunologischer Sicht leisten könnte. Dies ließ sich in unseren Versuchen nicht verifizieren.

Bei unseren 23 Patienten mit Morbus Crohn wurde der Aktivitätsgrad der Erkrankung nach dem "Crohn's disease activity index" (CDAI) bestimmt.

Dieser Aktivitätsindex, der auf acht klinischen und laborchemischen Parametern beruht, wurde in einer multizentrischen Therapiestudie, der "National Cooperative Crohn's disease study" (NCCDS) entwickelt, um mit einer einzelnen Größe die Aktivität des Krankheitsbildes beschreiben zu können (23).

Wir fanden bei unseren Untersuchungen zwar eine signifikante Erhöhung des Mittelwerts der β_2m - Plasmaspiegel bei den Patienten mit Morbus Crohn gegenüber den gesunden Kontrollpersonen; eine

Korrelation zwischen dem β_2m - Plasmaspiegel und dem Aktivitätsindex des Morbus Crohn (CDAI) ließ sich jedoch - im Gegensatz zum CEA - nicht nachweisen (vgl. Abb. 3).

Somit müssen wir abschließend feststellen, daß unsere Ergebnisse nicht mit den Berichten und Schlußfolgerungen von DESCOS et al. (9), sondern mit denen von KRUIS et al. (24) übereinstimmen.

Im Gegensatz dazu fand sich bei der Bestimmung der Plasmaspiegel des carcino - embryonalen Antigens (CEA) bei genau denselben Patienten mit Morbus Crohn eine sehr gute Korrelation zwischen den CEA - Plasmakonzentrationen und dem CDAI; so daß wir resümieren müssen, daß zum gegenwärtigen Zeitpunkt die Bestimmung der β_2m - Plasmakonzentration nach der Methode von EVRIN et al. (11) keine reproduzierbaren Erfolge zur Erkennung der Krankheitsaktivität bei Morbus Crohn bringt, wo gegen die Bestimmung der CEA - Plasmakonzentration zwar kein neues, jedoch wertvolles diagnostisches Hilfsmittel in diesem Bereich darstellt.

Aufgrund des oben ausgeführten Trends zu höheren als normalen β_2m - Werten bei entzündlichen gastroenterologischen Erkrankungen erwies es sich als notwendig, zur Tumordiagnostik eine klinische Relevanzgrenze für das β_2m zu etablieren.

Diese Grenze, die differentialdiagnostisch bedeutsame nicht maligne Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts von Adenocarcinomen desselben trennt, wurde auf 3,0 mg/l festgelegt.

Sie wurde nur mehr von ca. 15% der Patienten der Gruppe mit GI - Entzündungen und der Patienten mit Morbus Crohn überschritten.

1.2 Klinische Wertigkeit des $ß_2m$ bei Malignomen des Gastrointestinaltrakts

Da sich die Bedeutung des CEA - Plasmaspiegels bei der Erstdiagnostik gastrointestinaler Malignome als gering erwiesen hat (1,3), richtet sich die intensive Suche weiterhin auf einen Tumormarker, der insbesondere in einem frühen, noch kurativen Stadium spezifische Hinweise auf einen malignen Prozeß des Verdauungstrakts liefern könnte, d. h. eine Frühdiagnose erlaubt.

Bei unseren Untersuchungen des $ß_2m$ - Plasmaspiegels bei Patienten mit Adenocarcinomen des Verdauungstrakts, die die diskutierte Bedeutung des ß-2-Mikroglobulin als Tumormarker (8,11,13,19) überprüfen sollten, waren Erhöhungen über die oben ausgeführte klinische Relevanzgrenze nur noch selten nachzuweisen.

So fanden sich Erhöhungen über die klinische Relevanzgrenze von 3,0 mg/l in den DUKES - Stadien A,B,C und D nur noch in 0%, 10%, 14% bzw. 44%.

Dagegen zeigte das Plasma - CEA bereits im DUKES-Stadium C eine Frequenz von 43% über die klinische

Relevanzgrenze (>5 µg/l) erhöhter Plasmakonzentrationen und im Dukesstadium D nahezu 70%.

Demzufolge beschränkt sich die klinische Wertigkeit der $ß_2m$ - Plasmakonzentration auf prognostisch ungünstige Colon - Rectum - Carcinome mit Fernmetastasierung, und selbst dies in weniger als der Hälfte der Fälle.

Da aber die Absolutwerte der $ß_2m$ - Konzentrationsanstiege selbst im Dukesstadium D sehr dezent sind, konnte diese Untersuchung keinen Absolutwert als sicheren Hinweis auf eine eingetretene Fernmetastasierung eruieren, wie dies etwa beim CEA bei Werten über 60 µg/l der Fall ist (3).

Bei Magencarcinomen fand sich eine Erhöhung der $ß_2m$ - Plasmakonzentration über die klinische Relevanzgrenze überhaupt nur mehr vereinzelt und ohne Bezug zur Tumorausdehnung.

Was die parallele Bestimmung des $ß_2m$ und CEA betrifft, so führt auch diese zu keiner Verbesserung der klinischen Aussagekraft. So liegt bei Heranziehung erhöhter Plasmakonzentrationen von wenigstens einem der beiden Antigene die Frequenz der Hinweise auf Malignom nicht über der durch die Plasma - CEA - Bestimmung allein gegebenen Frequenz, und Erhöhungen der Plasmakonzentrationen sowohl des $ß_2m$ als auch des CEA sind praktisch nur bei Colon - Rectum - Carcinomen mit Fernmetastasierung zu finden.

Unsere Studie konnte somit die Ergebnisse von DAVER et al. (7) nicht bestätigen, die 1977/78 bei einer nicht unbeträchtlichen Zahl von Malignompatienten

bei unauffälligem CEA - Spiegel erhöhte β_2m - Werte gefunden hatten.

Ebenso erscheinen uns vor dem Hintergrund unserer Ergebnisse Berichte kontrollbedürftig, wonach Erhöhungen der β_2m - und CEA - Plasmakonzentration über die Normalgrenze nicht bei entzündlichen Pankreasaffektionen, sondern nur beim Adenocarcinom des Pankreas zu finden wären (13), mithin also beweisend für Malignität seien.

Von unseren 5 Patienten mit chronischer Pankreatitis hatten 3 β_2m - Plasmakonzentrationen über 2,4 mg/l, ähnlich den Ergebnissen von DAVER et al. (7), der bei chronischer Pankreatitis 40% erhöhte β_2m - Werte fand.

2. KLINISCHE WERTIGKEIT DES β_2m UND DES CEA BEI DER POSTOPERATIVEN VERLAUFSKONTROLLE

Die Bestimmung der Plasma - CEA - Konzentration ist, wie auch in dieser Studie wieder bestätigt werden konnte, in der Beurteilung der Operationsradikalität gastrointestinaler Malignome ein wichtiger diagnostischer Parameter.

Man kann davon ausgehen, daß bei kurativen Operationen innerhalb der ersten zehn Wochen eine Normalisierung praeoperativ erhöhter Plasma - CEA - Werte eintritt.

Anstieg der CEA - Werte oder Ausbleiben der Normalisierung zeigen frühzeitig das Zurückbleiben von Tumormassen an.

Bei der postoperativen Langzeitverlaufskontrolle von 24 Monaten im Rahmen der Tumornachsorge dieser Patienten erwies sich die Plasma - CEA - Konzentration in vielen, wenngleich nicht in allen Fällen als wichtiges diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung von Fernmetastasierungen, vor allem in die Leber, sowie zur Erkennung von deutlich infiltrativ wachsenden Tumorrezidiven. Vorwarnzeiten von bis zu einem knappen Jahr vor der klinischen Diagnosestellung der Fernmetastasierung wurden beobachtet (4).

So bietet also die Plasma - CEA - Bestimmung häufig bei der Tumornachsorge nach Resektion von Carcinomen des Verdauungstrakts eine Möglichkeit zur frühzeitigen Beurteilung des Therapieerfolgs, wobei die Nichtnormalisierung praeoperativ erhöhter CEA - Spiegel als positiver Hinweis auf eine nichtradikale Resektion angesehen werden kann, wogegen ein Abfall die Radikalität nicht beweist (4,20,21, Übersicht bei 2).

Bei unseren Untersuchungen fiel bei den postoperativen Verläufen eine deutliche Dissoziation zwischen den postoperativen Werten des β_2m und des CEA auf.

Bei den palliativ operierten Patienten aus unserem Untersuchungskollektiv blieb eine Normalisierung praeoperativ erhöhter β_2m - und CEA - Werte aus, obwohl sich bei einzelnen Patienten ein gewisser Abfall fand, wenn auch nicht auf Normalwerte.

Bei den kurativ operierten Patienten trat innerhalb von vier Monaten eine Normalisierung praeoperativ erhöhter Plasma - CEA - Werte ein, in Bestätigung früherer Berichte (4,20,21; Übersicht bei 2).

Bei den $ß_2m$ - Plasmakonzentrationen jedoch fiel bei 72% dieser Patienten in diesem Zeitraum ein zum Teil sehr ausgeprägter postoperativer Anstieg der Plasmakonzentrationen auf, der - bei allerdings meist fallender Verlaufstendenz derselben - bei 44% dieser Patienten auch nach 4 Monaten noch zu höheren als normalen $ß_2m$ - Werten führte.

Dies war auch der Fall bei Patienten, die bei bis zu 24 Monaten dauernder postoperativer Beobachtung als radikal reseziert anzusehen sind.

Diese ausgeprägten postoperativen Anstiege des $ß_2m$ sind am wahrscheinlichsten durch die postoperativen entzündlichen Reparationsprozesse bedingt.

Beim CEA wurden dagegen derartige unmittelbar postoperative Konzentrationsanstiege sehr selten, und dann auch nur wenige Wochen dauernd, beobachtet (4).

So wiesen die bei vier angeblich radikal resezierten Patienten innerhalb der ersten vier postoperativen Monate beobachtete fehlende Normalisierung bzw. die kontinuierlich ansteigende Verlaufstendenz der Plasma - CEA - Konzentration frühzeitig darauf hin, daß entgegen der ursprünglichen Beurteilung nicht kurativ reseziert worden war.

Dies konnte bei drei der Patienten später auch bestätigt werden, der vierte Patient entzog sich der weiteren Kontrolle.

Bei einem weiteren Patienten mit während der Nachsorge deutlich gewordener inkompletter Resektion hatte sich jedoch das CEA normalisiert, während das ß-2-Mikroglobulin unverändert im Normbereich geblieben war.

Somit bietet bei der postoperativen Verlaufskontrolle die Bestimmung der $ß_2m$ - Plasmakonzentration - im Gegensatz zur CEA - Plasmakonzentration - keine diagnostische Hilfe zur frühzeitigen Beurteilung der Radikalität des chirurgisch - therapeutischen Eingriffes.

Tabelle 1

Spalte		1		2		3	4
Ca Colon - Rectum	n	β_2m	CEA	β_2m	CEA	β_2m/CEA	β_2m+CEA
DUKES A	6	0	0	0	0	0	0
DUKES B	20	25	60	10	15	25	0
DUKES C	7	57	57	14	43	43	14
DUKES D	9	67	89	44	67	78	33
Gesamt	42	36	57	17	29	36	9

Spalte 1: > Normalgrenze (β_2m>2,4 mg/l; CEA>2,5 ug/l)
Spalte 2: > Klinische Relevanzgrenze (β_2m>3,0 mg/l; CEA>5,0 ug/l)
Spalte 3: Entweder β_2m oder CEA >klinische Relevanzgrenze
Spalte 4: Sowohl β_2m als auch CEA >klinische Relevanzgrenze

Tabelle 1: Prozentuelle Verteilung erhöhter β_2m - bzw. CEA - Plasmakonzentrationen bei Patienten mit Colon - Rectum - Adenocarcinom, aufgegliedert nach DUKES-Stadien.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Auer I.O., Münch L.: Die Aussagekraft der Konzentration des karzinoembryonalen Antigens im Plasma bei der Erstdiagnose von Malignomen des Verdauungstraktes.

   30. Tgg. der Dtsch. Gesellschaft f. Verdauungs- u. Stoffwechselkrankheiten, Wien 1975, Sonderheft Zeitschr. f. Gastroenterologie PP 14 - 15 (1975)

2. Auer I.O.: Das karzinoembryonale Antigen bei Karzinomen des Verdauungstraktes.

   Dtsch. Med. Wschr., 102, 1101 - 1104 (1977)

3. Auer I.O., Münch L., Epping J., Schmid L.: Die klinische Aussagekraft der Plasmakonzentration des carcinoembryonalen Antigens (CEA) bei der Erstdiagnose von Malignomen des Verdauungstraktes.

   Zeitschr. f. Gastroenterologie, 15, 491 - 503 (1977)

4. Auer I.O., Schmid L., Hoecht G., Kaufner G., Leclerq I.: Die klinische Wertigkeit der Plasma - CEA - Konzentration bei der postoperativen Verlaufskontrolle von Karzinomen des Verdauungstraktes.

   Med. Klinik, 72, 934 - 941 (1977)

5. Auer I.O., Wätzel Ch., Greulich M.: Beta - 2 - Mikroglobulin - Plasmakonzentrationen bei Karzinomen des Verdauungstraktes.

Med. Klinik 43, 1581 - 1584 (1979)

6. Axtell L.M., Asire A. J., Myers M.H.: Cancer patient survival.

Report Nr. 5, Dep. Health, Educ., Welfare, Publ. No. (NIH) 77 - 992, pp 1 - 11 (1976)

7. Daver A., Wafflart J., Ben Bouali A., Minier S.F., Larra F., Agerup B.: Beta-2-microglobulin and carcinoembryonic antigen in intestinal cancers - a correlation with stage of disease.

Clinical Application of Carcinoembryonic Antigen Assay. Excerpta Med. Internat. Congr. Ser. Nr.439, pp 460 - 465 (1977)

8. Daver A., Wafflart J., Ben Bouali A., Minier S.F.,Larra F., Agerup B.: ß-2-Microglobulin compared to carcinoembryonic antigen (CEA) in patients with cancer.

Submitted.

9. Descos L., Andere C., Beorchia S., Vincent C., Revillard J.P.: Serum levels of ß-2-Microglobulin. A new marker of activity in Crohn's disease.

New Engl. J. Med. 301, 440 - 441 (1979)

10. Dukes C.E., Bussey H.J.R.: The spread of rectal cancer and its effect on prognosis.

Brit. J. Canc. 12, 309 - 323 (1968)

11. Evrin P.E., Peterson P.A., Wide L., Berggard I.: Radioimmunoassay of Beta-2-microglobulin in human biological fluids.

Scand. J. Clin. Lab. Invest. 28, 439 - 443 (1971)

12. Evrin P.E., Wibell L.: Serum ß-2-Microglobulin in various disorders.

Clin. Chem. Acta 43, 183 - 187 (1973)

13. Fateh - Moghadam A., Mantel W., Neumeier D., Hannig Ch., Otte M.: Wertigkeit der Bestimmung von ß-2-Mikroglobulin in der Diagnostik des Pankreascarcinoms.

Klin. Wschr. 56, 267 - 270 (1978)

14. Hansen H., Snyder J., Miller E., Vandevoorde J., Miller O., Hines L.R., Burns J.: Carcinoembryonic antigen (CEA) assay. A laboratory adjunct in the diagnosis and management of cancer.

Human Pathol., 5, 139 - 154 (1974)

15. Karlsson F.A.: Physico - chemical properties of Beta-2-microglobulin.

Immunchemistry, 2, 111 - 118 (1974)

16. Kin K., Sakurabayaski I., Kawai T.: Beta-2-Microglobulin levels of serum and ascites in malignant diseases.

Gann 68, 427 - 434 (1977)

17. Peterson P.A., Cunningham B.A., Berggard I., Edelmann G.M.: B-2-Microglobulin. A free immunoglobulin domain.

Proc. Natl. Acad. Sci, 69, 1697 - 1701 (1972)

18. Schweiger O.,Tomcsäany A., Kertoesz L.: The possibilities of immunodiagnosis in primary bronchial cancer.

Scand. J. Respir. Dis. Supp. 1. 102, 207 - 208 (1978)

19. Shuster J., Gold P., Poulik M.D.: Beta-2-microglobulin levels in cancerous and other disease states.

Clin. Chim. Acta 67, 307 - 313 (1976)

20. Staab H.J., Anderer F.A., Stumpf E., Fischer R.: Slope analysis of the postoperative CEA time course and its possible application as an aid in diagnosis of disease progression in gastrointestinal cancer.

Amer. J. Surg., 136, 321 - 327 (1978)

21. Staab H.J., Anderer F.A., Stumpf E., Fischer R.:Carcinoembryonales Antigen (CEA)

Dtsch. Med. Wschr. 102, 1082 - 1086 (1977)

22. Taesdale C., Mander A.M., Fifield F., Keyser J.W., Newcombe R.G., Hughes L.E.:Serum - B_2-Microglobulin in controls and cancer patients.

Clin. Chim. Acta 78, 135 - 143 (1977)

23. Best W.R., Becktel J.M., Singleton J.W., et al.: Development of a Crohn's disease activity index, National Cooperative Crohn's disease Study.

Gastroenterol. 70, 439 - 444 (1976)

24. Kruis W., Fateh - Moghadam A., Sandel P.: Serum level of ß-2-microglobulin - a new marker of activity in Crohn's disease?

N. Engl. J. Med. 301, 1348 (1979)

25. Rule A.H., Geleski - Reilly G., Sachar D.B., et al.: Circulating carcinoembryonic antigen (CEA): Relationship to clinical status of patients with inflammatory bowel disease.

Gut 14, 880 - 884 (1973)

26. Auer I.O., Schmid L., Ziemer E., et al.:Die klinische Wertigkeit der Plasma - CEA - Konzentration zur Aktivitätskontrolle chronisch entzündlicher Darmerkrankungen.

Zeitschr. f. Gastroenterologie, Suppl. 11, 109 - 111 (1976)

27. Auer I.O.,Wätzel Ch., Hiesche K.: Klinische Wertigkeit der gleichzeitigen Bestimmung der Plasma - Konzentrationen des Beta-2-Mikroglobulin ($ß_2m$) und des Carzino - embryonalen Antigens (CEA) bei der Erstdiagnostik und der Beurteilung der Operationsradikalität von Adenokarzinomen des Verdauungstraktes.

Klin. Wschr. 58, 1313 - 1317 (1980)

28. Lamerz R., Fateh - Moghadam A.: Carcino-
fetale Antigene

Klin. Wschr. 53, 193 - 203 (1975)

L E B E N S L A U F

Am 22. Dezember 1953 wurde ich als Tochter des Architekten Gerhard Kenntner und seiner Ehefrau Annerose, geb. Munz, in Unterbrüden, jetzt Auenwald, geboren.

1959 übersiedelte ich mit meinen Eltern nach Oberkochen, wo ich ab 1960 die Grundschule und anschließend das mathematisch - naturwissenschaftliche Gymnasium besuchte, an welchem ich im Juni 1973 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1973/74 nahm ich das Studium der Humanmedizin an der Julius - Maximilians - Universität in Würzburg auf. Die Ärztliche Vorprüfung folgte im August 1975, der erste Teil der Ärztlichen Prüfung im August 1976. Mit der Bearbeitung der vorliegenden Dissertation begann ich im Oktober 1977.

Nach dem zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung im August 1978 trat ich als Internatsstudentin in das Praktische Jahr ein wo ich an der Medizinischen Poliklinik und an der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg tätig war; außerdem im Wahlfach an der Universitätsaugenklinik.

Im Herbst 1979 legte ich in Würzburg das medizinische Staatsexamen ab und erhielt daraufhin am 19. November die Approbation als Ärztin. Meine erste Stelle trat ich im Januar 1980 als Assistenzärztin auf der chirurgischen Abteilung des Städt. Krankenhauses Bobingen an, wo ich seit April 1981 auf der inneren Abteilung tätig bin.

Ich bin verheiratet mit dem Rechtsreferendar Hartmut Wätzel aus Jena und habe einen Sohn.

Christa Wätzel